INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶:
C07K 5/02, C07D 207/22, 211/78, A61K

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 98/06740

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

19. Februar 1998 (19.02.98)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP97/04105

A1

(22) Internationales Anmeldedatum:

29. Juli 1997 (29.07.97)

(30) Prioritätsdaten:

38/05

۴.

Ŀ

196 32 772.5

14. August 1996 (14.08.96)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK-TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUCKE, Dorit [DE/DE];
Bellenstrasse 58, D-68163 Mannheim (DE). LANGE,
Udo [DE/DE]; Sternstrasse 17, D-67063 Ludwigshafen
(DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring 80, D67067 Ludwigshafen (DE). PFEIFFER, Thomas [DE/DE];
Forststrasse 43a, D-67459 Böhl-Iggelheim (DE). SEITZ,
Werner [DE/DE]; Bismarckstrasse 22b, D-68723 Plankstadt
(DE). ZIERKE, Thomas [DE/DE]; Akazienstrasse 12, D67459 Böhl-Iggelheim (DE). HÖFFKEN, Hans, Wolfgang
[DE/DE]; Dammstückerweg 37, D-67069 Ludwigshafen
(DE). HORNBERGER, Wilfried [DE/DE]; Goldener
Winkel 14, D-67434 Neustadt (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, CA, CN, CZ, GE, HU, IL, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: DIPEPTIDE BENZAMIDINE AS A KININOGENASE INHIBITOR

(54) Bezeichnung: DIPEPTIDISCHE BENZAMIDINE ALS KININOGENASEN-INHIBITOREN

(57) Abstract

Disclosed are compounds having formula (I) wherein the radicals R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶, as well as I, m, and n have the meaning indicated in the description, and the production of said compounds. The new compounds can be used to combat illness. Also described are compounds having formula (II) wherein the radicals R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶, as well as I, m, and n have the meaning indicated in claim 1, and compounds having formula (III) wherein 1 and R have the meaning indicated in claim 1 and Y is an N protective group, or N-terminal protected or unprotected amino acid or represents H.

(57) Zusammenfassung

Es werden Verbindungen der Formel (I), worin die Reste R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ und R⁶ sowie 1, m und n die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen, sowie deren Herstellung beschrieben. Die neuen Verbindungen eignen sich zur Bekämpfung von Krankheiten. Ausserdem werden auch Verbindungen der Formel (II), worin die Reste R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ und R⁶ sowie 1, m und n die in Anspruch 1 genannten Bedeutungen besitzen, und Verbindungen der Formel (III), worin 1 und R die Bedeutung gemäss Anspruch

$$R^{1} - (CE_{2})_{n} - C - (CE_{2})_{n} - H - C - CO - H - (CE_{2})_{1}$$

$$R^{1} - (CE_{2})_{n} - C - (CE_{2})_{n} - H - C - CO - H - (CE_{2})_{2}$$

$$R^{2} - R^{2} - R^{2}$$

$$R^{3} - R^{4} - R^{2}$$

$$R^{4} - R^{4} - R^{2}$$

$$R^{4} - R^{4} - R^{4}$$

$$R^{4} - R^{4}$$

$$a_{1}-(cat_{2})_{a_{1}}-c_{1}-(cat_{2})_{a_{1}}-a_{2}-c_{1}-c_{2}-c_{3}-c_{4}-c_{4}-c_{5$$

1 besitzt und Y eine N-Schutzgruppe, eine N-terminal geschützte oder ungeschützte Aminosäure oder H bedeutet, beschrieben.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	I.S	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakci
AT	Österreich	FR	Prankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
ΑU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
ΑZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungam	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	Œ	Irland	MN	Mangolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	[L	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten vo
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	U2	Usbekistan
CG	Копдо	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neusceland	2W	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	ΚZ	Kasachstan	RO	Ruminien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	u	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
RE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

WO 98/06740 PCT/EP97/04105

DIPEPTIDISCHE BENZAMIDINE ALS KININOGENASEN-INHIBITOREN

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Benzamidine, ihre Herstellung und ihre Verwendung als kompetitive Inhibitoren von Trypsin-ähnlichen Serinproteasen, besonders Thrombin und Kininogenasen wie Kallikrein. Die Erfindung bezieht sich auch 10 auf pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen als aktive Bestandteile enthalten, sowie die Verwendung der Verbindungen als Thrombininhibitoren, Antikoagulantien und als antiinflammatorische Agenzien.

- 15 Thrombin gehört zur Gruppe der Serinproteasen und spielt als terminales Enzym in der Blutgerinnungskaskade eine zentrale Rolle. Sowohl die intrinsische als auch die extrinsische Gerinnungskaskade führen über mehrere Verstärkungsstufen zur Entstehung von Thrombin aus Prothrombin. Die thrombinkatalysierte 20 Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin leitet dann die Blutgerinnung und die Aggregation der Thrombozyten ein, die ihrerseits durch die Bindung von Plättchenfaktor 3 und Gerinnungsfaktor XIII sowie eine ganze Reihe von hochaktiven Mediatoren die Thrombinbildung verstärken.
- Thrombinbildung und -wirkung sind zentrale Ereignisse bei der Entstehung sowohl von weißen, arteriellen als auch von roten, venösen Thromben und daher potentiell wirksame Angriffspunkte für Pharmaka. Thrombininhibitoren sind im Gegensatz zu Heparin in der Lage, unabhängig von Kofaktoren gleichzeitig die Wirkungen von freiem Thrombin als auch an Thrombozyten gebundenes vollständig zu hemmen. Sie können in der Akutphase thromboembolische Ereignisse nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) und Lyse verhindern und als Antikoagulantien in der extrakorporalen Zirkulation (Herz-Lungen-Maschine, Hämodialyse) dienen. Sie können auch allgemein zur Thromboseprophylaxe, beispielsweise nach chirurgischen Eingriffen dienen.
- Es ist bekannt, daß synthetische Argininderivate die Enzym40 aktivität des Thrombins beeinflussen, indem sie mit dem aktiven
 Serinrest der Protease Thrombin in Wechselwirkung treten. Peptide
 auf der Basis Phe-Pro-Arg, in denen die N-terminale Aminosäure in
 der D-Form vorliegt, haben sich als besonders günstig erwiesen.
 D-Phe-Pro-Arg-isopropylester ist als kompetitiv wirkender
 45 Thrombininhibitor beschrieben (C.Mattson u.a., Folia Haematol,
 109, 43 bis 51, 1983).

Die Derivatisierung des C-Terminus Arginin zum Aldehyd führt zu einer Verstärkung der Inhibitorwirkung. So sind eine Vielzahl von Arginalen beschrieben, die die Hydroxylgruppe des "aktiven" Serins halbacetalisch zu binden vermögen (EP 185390, 479489, 526877, 542525; WO 93/15756, 93/18060).

Die thrombininhibitorische Wirksamkeit peptidischer Ketone, fluorierter Alkylketone, sowie von Ketoestern, Borsäurederivaten, phosphorsäureestern und α-Ketocarbonsäureamiden ist ebenfalls mit dieser Serin-Wechselwirkung erklärbar (EP 118280, 195212, 362002, 364344, 410411, 471651, 589741, 293881, 503203, 504064, 530167; WO 92/07869, 94/08941).

Bei den von J. Oleksyszyn u.a. in J. Med. Chem. 37, 226 bis 231 15 (1994) beschriebenen peptidischen 4-Amidinophenyl-glycinphosphonat-diphenylestern handelt es sich um irreversible Thrombininhibitoren mit unzureichender Selektivität gegenüber anderen Serinproteasen.

20 In DE 3 108 810, WO 93/11152 und EP 601 459 sind Agmatin und damit Arginin-Derivate beschrieben, die keine Wechselwirkung mit dem aktiven Serin der Serinproteasen eingehen können.

WO 94/29336, EP 0 601 459 und WO 95/23609 stellen eine Weiter-25 entwicklung dar, wobei der Agmatin- durch einen Arylamidinrest ersetzt ist.

Kininogenasen sind Serinproteasen, die aus Kininogenen vasoaktive Peptide, die sog. Kinine (Bradykinin, Kallidin und Met-Lys-30 bradylinin), freisetzen. Kininogene stellen multifunktionale Proteine dar, die in Kaskadenreaktionen der Gerinnung und Entzündung auftreten. Als Inhibitoren schützen sie Zellen vor der Zerstörung durch Cystein-Proteasen (Müller Esterl, 1985, FEBS Lett. 182, 310-314).

Wichtige Kininogenasen sind Plasma-Kallikrein, Gewebs-Kallikrein und Mastzellen-Tryptase.

Kinine wie Bradykinin und Kallidin sind vasoaktive Peptide, die 40 eine Vielzahl biologischer Prozesse beeinflussen. Sie spielen in entzündlichen Prozessen eine wesentliche Rolle. Durch Erhöhung der vaskulären Permeabilität führen sie zu Hypotension und Ödemen. Weiterhin sind sie sehr potente schmerzproduzierende Autacoide und haben als zelluläre Mediatoren in der Pathophysio-45 logie des Asthmas, der allergischen Rhinitis und der Arthritis

große Bedeutung (K.D. Bhoola, C.D. Figueroa, K. Worthy, Pharmacological Reviews 1992, 44 (1), 1-80).

Unabhängig von den Mechanismen, die entzündlichen Prozessen

5 zugrundeliegen, kommt es zum Austritt von Flüssigkeit aus den
Blutgefäßen, die alle Protein-Systeme des zirkulierenden Blutes
enthält. Das bedeutet, daß der Austritt von Plasmaflüssigkeit aus
den Gefäßen in Krankheiten wie Asthma, Rhinitis und entzündungsbedingten inneren Krankheiten eine Rolle spielt. Besonders in
allergischen Prozessen wird dabei Mastzell-Tryptase freigesetzt
(Salomonsson et al., Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 146,
1535-1542).

Die Arginin-Chloromethylketone H-(D)-Pro-Phe-Arg-CH₂Cl und 15 H-(D)-Phe-Arg-CH₂-Cl wurden von Kettner und Shaw als Plasma-Kallikreininhibitoren beschrieben (Biochem. 1978, <u>17</u>, 4778-4784 und Meth. Enzym. 1981, <u>80</u>, 826-842).

Verschiedene synthetische Derivate von Benzamidinen und Benzyl20 aminen erwiesen sich als Inhibitoren von Plasmakallikrein, wobei die Benzamidine eine wesentlich stärkere inhibitorische Wirkung aufweisen (F. Markward, S. Drawert, P. Walsmann, Biochemical Pharmacology 1974, 23, 2247-2256).

- 25 Auch PKSI-527, das Hydrochlorid von N-(trans-4-aminomethyl-cyclohexylcarbonyl)-L-phenylalanin-4-carboxymethyl-anilid, ist ein wirksamer Inhibitor für diese Kininogenase (Wanaka, Ohamoto et al., Thromb. Res. 1990, <u>57</u> (6), 889-895).
- 30 Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I

35
$$R^{1-(CH_{2})_{m}-C} = C = CCH_{2} = N = N = C = CC = N = CCH_{2} = N = CC = N = CCH_{2} = N =$$

45 worin die Reste R, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 und R^6 sowie 1, m und n folgende Bedeutungen besitzen:

0 oder 1. 1 0,1 oder 2, m 0,1 oder 2, n H oder C1-4-Alkyl-, R HOOC-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-, Benzyl-OOC- oder -OH, 5 R¹ H-, $C_{1\cdot 4}$ -Alkyl- oder R^1 -(CH₂)_m-, \mathbb{R}^2 H- oder C_{1.4}-Alkyl-, welches durch -OH oder -COOH R³ substituiert sein kann, H-, $C_{1-4}-Alkyl-$, $HOOC-C_{1-4}-alkylen-$, R4 C_{1-8} -Alkyl-, Cycloalkyl-(CR⁸R⁹)_r-, (r = 0 oder 1, R⁸, 10 R5 $R^9 = H$ -, Cycloalkyl- oder C_{1-4} -Alkyl-), worin bis zu vier CH2-Gruppen des Cycloalkylrestes unabhängig voneinander durch $CR^{10}R^{11}$ ($R^{10} = \text{H-oder C}_{1-4}\text{-Alkyl-,}$ $R^{11} = C_{1-4}$ -Alkyl-) und/oder die an CR^8R^9 gebundene CH-Gruppe des Cycloalkylrestes durch CR12 15 $(R^{12} = C_{1-4}-Alkyl-)$ ersetzt sein können und/oder eine oder zwei C-C-Einfachbindung(en) im Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt sein können, H-, C1.4-Alkyl- oder R6

20

zusammen - CH_2 - CH_2 - $CH(R^7)$ -, ($R^7 = H$ -, Phenyl- oder R4 und R5 Cyclohexyl-)

zusammen -CH2-CH2- oder -CH2-CH2-CH2-, worin ein Wasserstoffatom durch $C_{1\cdot 4}$ -Alkyl-, Phenyl- oder Cycloalkyl-25 ersetzt sein kann,

sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

30 Die durch $-NR^4-C(R^5R^6)$ -CO-dargestellten Aminosäurereste sind vorzugsweise (D)-konfiguriert, das 3,4-Dehydroprolin bzw. die 4,5-Dehydropipecolinsäure vorzugsweise (L)-konfiguriert.

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, worin die Gruppe 35

$$R^{1}$$
 — $(CH_{2})_{m}$ — C — $(CH_{2})_{n}$ — R^{3}

40

 $HOOC-(CH_2)_t-(t=1, 2 oder 3), (HOOC-CH_2)_2-CH-, (HO-CH_2)_2CH-,$ $HOOC-CH_2-CH(COOH)-$, $HOOC-CH(CH_2-CH_2-OH)-$, $HOOC-CH(C_{1-4}-Alkyl)-$, 45 C₁₋₄-Alkyl-OOC-CH₂-, Benzyl-OOC-CH₂- ist,

5

25

$$R^{i}$$

$$- N - CH - CO - , (R^{i}) = Phenyl \cdot oder Cyclohexyl \cdot)$$

$$R^{j}$$

$$- NH - CH - CO - R^{j} = Cyclopentyl \cdot , Cycloheptyl \cdot ,$$

$$1 \cdot Adamantyl \cdot , 1 \cdot Norbornyl \cdot$$

35

40 bedeutet, wobei dieser Baustein vorzugsweise D-konfiguriert ist,

- 1 0 ist und
- R H- oder CH3- ist.

NH — CH — CO —

Bevorzugt sind weiter Verbindungen der Formel I, worin die Gruppe

10 $HOOC-(CH_2)_t-(t=1, 2 oder 3), (HOOC-CH_2)_2-CH-, (HO-CH_2)_2CH-,$ ${\tt HOOC-CH_2-CH\,(COOH)}$ -, ${\tt HOOC-CH\,(CH_2-CH_2-OH)}$ -, ${\tt HOOC-CH\,(C_{1-4}-Alkyl)}$ -, C₁₋₄-Alkyl-OOC-CH₂-, Benzyl-OOC-CH₂- ist,

20

30

40

15 bedeutet, wobei dieser Baustein vorzugsweise D-konfiguriert ist,

l 1 ist und

R H- oder CH3-ist.

Bevorzugt sind auch Verbindungen mit dem strukturellen Element der Formel

$$\begin{array}{c|c}
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& & & \\
& &$$

worin 1 = 0 oder 1 und R = H oder C_1-C_4 -Alkyl, insbesonder CH_3 , bedeutet.

35 Als Zwischenverbindungen sind Verbindungen der Formel II bevorzugt

40

20

worin die Gruppe

15
$$R^{1} - (CH_{2})_{m} - C - (CH_{2})_{n} -$$

$$R^{3}$$

$$\begin{split} &\text{HOOC-(CH}_2)_{\,\text{t}} \cdot \text{ (t = 1, 2 oder 3), (HOOC-CH}_2)_2\text{-CH·, (HO-CH}_2)_2\text{CH·,} \\ &\text{HOOC-CH}_2\text{-CH (COOH)-, HOOC-CH (CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH)-, HOOC-CH (C}_{1-4}\text{-Alkyl)-,} \\ &\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-OOC-CH}_2\text{-, Benzyl-OOC-CH}_2\text{- ist,} \end{split}$$

35

25

40

bedeutet, wobei dieser Baustein vorzugsweise D-konfiguriert ist,

35 1 0 oder 1 ist und

R H- oder CH3- ist.

Weiterhin sind als Zwischenstufen die Verbindungen der Formel 40

$$Y = N \qquad (CH_2)_1 \qquad R$$

$$CO = NH = CH_2 \qquad CN$$
III,

interessant, worin 1 und R die Bedeutung gemäß Anspruch 1 besitzt und Y eine N-Schutzgruppe, eine N-terminal geschützte oder ungeschützte Aminosäure oder H- bedeutet.

5 Bevorzugte Verbindungen der Formel III sind diejenigen, in denen

```
Y Boc-, Boc-Cha-, H-Cha-, Boc-Chg-, H-Chg oder H,
```

1 = 0 oder 1 und R = H oder CH₃ bedeuten.

10

Folgende Substanzen sind besonders bevorzugt:

```
1. HOOC-CH<sub>2</sub>-(D)-Cha-Pyr-NH-4-amb
```

- 2. HOOC-(CH₂)₂-(D)-Cha-Pyr-NH-4-amb
- 15 3. (HOOC-CH₂)₂CH-(D)-Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 4. (HO-CH₂)₂CH-(D)-Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 5. HOOC-CH2-CH(COOH)-(D)-Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 6. $HOOC-CH_2-(D)-Chg-Pyr-NH-4-amb$
 - 7. $HOOC-CH_2-(D)-(\alpha-Me)Cha-Pyr-NH-4-amb$
- 20 8. HOOC-CH2-(D,L)-(1-Me)Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 9. $HOOC-CH_2-(D,L)-(\beta,\beta-Me_2)Cha-Pyr-NH-4-amb$
 - 10. HOOC-CH₂ · (D,L) · (trans 4-Me) Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 11. HOOC-CH₂-(D,L)-Cycloheptylalanin-Pyr-NH-4-amb
 - 12. HOOC-CH2-(D,L)-1-Adamantylalanin-Pyr-NH-4-amb
- 25 13. HOOC-CH₂-(D,L)-2-Norbornylglycin-Pyr-NH-4-amb
 - 14. HOOC-CH₂-(D,L)-(3,3-Me₂)Cha-Pyr-NH-4-amb
 - 15. HOOC-CH₂-(D)-tert.-Butylalanin-Pyr-NH-4-amb
 - 16. HOOC-CH2-(D,L)(1,4-Cyclohexadien-1-yl)alanin-Pyr-NH-4-amb
 - 17. HOOC-CH₂-(D)-Cha-Dep-NH-4-amb
- 30 18. HOOC-CH2-(D)-Chg-Dep-NH-4-amb
 - 19. HOOC-CH2-(D,L)-Dch-Pyr-NH-4-amb

Hier wie auch in den Beispielen werden folgende Abkürzungen verwendet:

35

amb = amidinobenzyl

Boc = tert. -Butyloxycarbonyl

Cha = Cyclohexylalanin

Chea = Cycloheptylalanin

40 Chg = Cyclohexylglycin

Dch = Dicyclohexylalanin

Dpa = Diphenylalanin

Me = Methyl

Pyr = 3,4-Dehydroprolin

45 Dep = 4,5-Dehydropipecolinsaure

WO 98/06740 PCT/EP97/04105

Für den Fall, daß $-NR^4-CR^5R^6-CO$ - ein Cyclohexylalanin-Rest ist, wurden die einzelnen C-Atome wie folgt bezeichnet:

5
$$\begin{array}{c}
5 & 4 & 3 \\
6 & 1 & 2 \\
\hline
 & & C & CO \\
\hline
 & & H
\end{array}$$

10

Die Verbindungen der Formel I können als solche oder in Form ihrer Salze mit physiologisch verträglichen Säuren vorliegen.
Beispiele für solche Säuren sind: Salzsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Hydroxybernsteinsäure, Schwefelsäure, Glutarsäure, Asparaginsäure, Brenztraubensäure, Benzoesäure, Glucuronsäure, Oxalsäure, Ascorbinsäure und Acetylglycin.

Die neuen Verbindungen der Formel I lassen sich bei folgenden Indikationen einsetzen:

- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf
 der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
 - Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombinabhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,

30

- Krankheiten, die mit Stimulation (z.B. durch PAI-1, PDGF (platelet derived growth factor), P-Selectin, ICAM-1, Tissue Factor] oder Inhibition (z.B. NO-Synthese in Glattmuskelzellen) von Genexpressionen in Körperzellen einhergehen,

- Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
- Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktili täts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen
 (z.B. Gefäßendothelzellen) beruhen,
- thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse wie tiefe
 Venenthrombose, Lungenembolie, Myocard- oder Cerebralinfarkt,
 Vorhofflimmern, Bypassverschluß,

- disseminierte intravasale Koagulation (DIC),
- Reokklusion und zur Verkürzung der Reperfusionszeit bei Komedikation mit Thrombolytika wie Streptokinase, Urokinase,
- Prourokinase, t-PA, APSAC, Plasminogenaktivatoren aus den 5 Speicheldrüsen von Tieren sowie die rekombinanten und mutierten Formen all dieser Substanzen,
- das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA, 10
 - die thrombinabhängige Proliferation von Glattmuskelzellen,
- die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B. bei M. Alzheimer), 15
 - das Tumorwachstum sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.
- 20 Insbesondere lassen sich die neuen Verbindungen zur Therapie und Prophylaxe von thrombinabhängigen thromboembolischen Ereignissen wie tiefen Venenthrombosen, Lungenembolien, Myocard- oder Cerebralinfarkten und instabiler Angina, weiterhin zur Therapie der Disseminierten Intravasalen Koagulation (DIC) einsetzen. Weiter
- 25 eignen sie sich zur Kombinationstherapie mit Thrombolytika wie Streptokinase, Urokinase, Prourokinase, t-PA, APSAC und anderen Plasminogenaktivatoren zur Verkürzung der Reperfusionszeit und Verlängerung der Reokklusionszeit.
- 30 Weitere bevorzugte Anwendungsgebiete sind die Verhinderung thrombinabhängiger früher Reokklusion und später Restenosierung nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplasie, die Verhinderung thrombininduzierter Proliferation glatter Muskelzellen, die Verhinderung der Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B.
- 35 bei M. Alzheimer), die Tumorbekämpfung und die Verhinderung von Mechanismen, die zu Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen führen.
- Die neuen Verbindungen lassen sich auch zur Beschichtung von 40 künstlichen Oberflächen wie Hämodialysemembranen und den dazu erforderlichen Schlauchsystemen und Leitungen sowie von Oxygenatoren der extravasalen Zirkulation, Stents und Herzklappen verwenden.
- 45 Die neuen Verbindungen lassen sich weiter bei Krankheiten einsezen, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere

Kallikrein beruht z.B. bei Entzündungskrankheiten wie Asthma, Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inneren Entzündungskrankheiten.

- 5 Der besondere Vorteil der neuen Verbindungen liegt darin, daß sie durch Austausch von Prolin gegen 3,4-Dehydroprolin und durch Austausch von Pipecolinsäure gegen 4,5-Dehydropipecolinsäure eine verbesserte pharmakologische Wirkung zeigen und sich daher von den in WO 94/29336 beschriebenen Verbindungen hervorheben.
- Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in üblicher Weise oral oder parenteral (subkutan, intravenös, intramuskulär, intraperitoneal, rektal) verabfolgt werden. Die Applikation kann auch mit Dämpfen oder Sprays durch den Nasen-Rachenraum erfolgen.
- Die Dosierung hängt vom Alter, Zustand und Gewicht des Patienten sowie von der Applikationsart ab. In der Regel beträgt die tägliche Wirkstoffdosis pro Person zwischen etwa 10 und 2000 mg bei oraler Gabe und zwischen etwa 1 und 200 mg bei parenteraler Gabe. Diese Dosis kann in 2 bis 4 Einzeldosen oder einmalig am Tag als Depotform gegeben werden.

Die neuen Verbindungen können in den gebräuchlichen galenischen Applikationsformen fest oder flüssig angewendet werden, z.B. als 25 Tabletten, Filmtabletten, Kapseln, Pulver, Granulate, Dragees, Suppositorien, Lösungen, Salben, Cremes oder Sprays. Diese werden in üblicher Weise hergestellt. Die Wirkstoffe können dabei mit den üblichen galenischen Hilfsmitteln wie Tablettenbindern, Füllstoffen, Konservierungsmitteln, Tablettensprengmitteln, Fließtoffen, Konservierungsmitteln, Tablettensprengmitteln, Fließtoffen, Emulgatoren, Lösungsmitteln, Netzmitteln, Dispergiermitteln, Emulgatoren, Lösungsmitteln, Retardierungsmitteln, Antioxidantien und/oder Treibgasen verarbeitet werden (vgl. H. Sucker et al.: Pharmazeutische Technologie, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1978). Die so erhaltenen Applikationsformen enthalten den Wirkstoff normalerweise in einer Menge von 0,1 bis 99 Gew.-%.

Experimenteller Teil

Die Verbindungen der Formel I lassen sich entsprechend Schemata 40 I-III darstellen,

wobei A für
$$R^1 - (CH_2)_m - C - (CH_2)_n - C$$

B für
$$\begin{cases} R^4 & R^5 \\ & | & | \\ N - C - CO \end{cases}$$

$$\begin{cases} R^4 & R^5 \\ & | & | \\ R^6 & | & | \end{cases}$$

und E die in den Schemata angegebene Bedeutung besitzt. Die Reste 25 R, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 und R^6 sowie 1, m und n haben die oben angegebene Bedeutung.

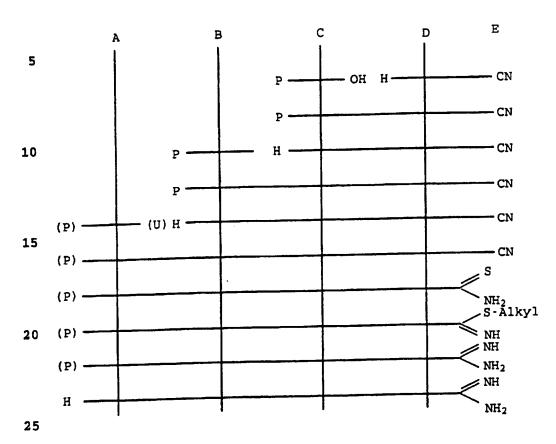
steht

Die Bausteine A, B, C und D werden vorzugsweise vorher separat aufgebaut und in geeignet geschützter Form (siehe Schema I-III) 30 eingesetzt.

Die Verbindungen der Formel I lassen sich ausgehend von den entsprechend geschützten Bausteinen A, B, C, D und E nach Schema I-III herstellen.

35

Schema I



(P = Schutzgruppe, (P) = Schutzgruppe oder H, (U) = Abgangsgruppe oder gegebenenfalls Aldehyd bzw. Keton, siehe nachfolgenden Text)

30 Schema I beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch Kupplung des Amins H-D-CN mit der N-geschützten Aminosäure P-C-OH zu P-C-D-CN, Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe zu H-C-D-CN, Kupplung mit der N-geschützten Aminosäure P-B-OH zu P-B-C-D-CN, Abspaltung der Schutzgruppe P zu H-B-C-D-CN,

anschließende Alkylierung mit dem gegebenenfalls geschützten (P)-A-U-Baustein (U = Abgangsgruppe) oder reduktive Aminierung mit (P)-A'-U (U = Aldehyd, Keton) oder Michael-Addition mit einem geeignetem (P)-A"-C=C-Derivat zu (P)-A-B-C-D-CN. Die Umwandlung der Nitrilfunktion in die Amidingruppe erfolgt entweder über

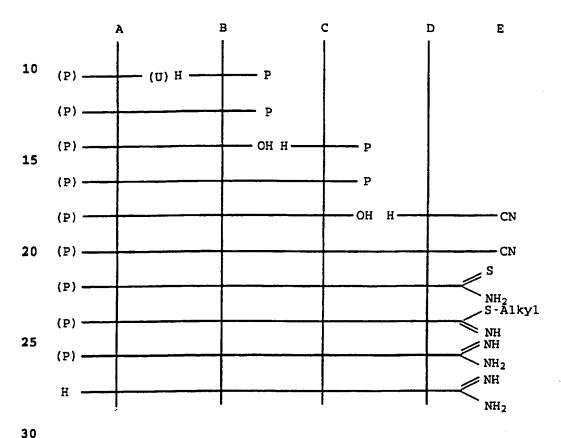
40 die klassische Pinner-Synthese (R. Boder, D.G. Neilson, Chem. Rev. 1962, 61, 179) oder über eine modifizierte Pinner-Synthese, die über Iminothioestersalze als Zwischenstufe abläuft (H. Vieweg et al., Pharmazie 1984, 39, 226) oder direkt nach der Methode von A. Eschenmoser Helv. Chimica Acta 69 (1986) 1224.

45 Anschließend werden im Molekül noch vorhandene Schutzgruppen vorzugsweise durch saure Hydrolyse abgespalten.

WO 98/06740 PCT/EP97/04105

Wird der Baustein D als H-D-CONH_2 in der Synthese eingebaut, so erfolgt auf einer der geschützten Zwischenstufen die Dehydratisierung der Amid- zur Nitrilfunktion.

5 Schema II



Schema II beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch Alkylierung, reduktive Aminierung oder Michael-Addition von H-B-P an entsprechend geeignete gegebenenfalls geschützte A-Bausteine zu (P)-A-B-P, Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe zu

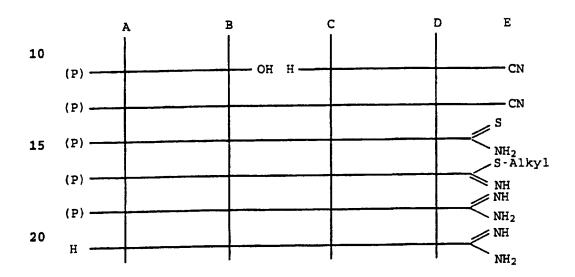
35 (P)-A-B-OH, Kupplung mit H-C-P zu (P)-A-B-C-P, Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe zu (P)-A-B-C-OH, Kupplung mit H-D-CN zu (P)-A-B-C-D-CN und Umsetzung dieses Zwischenprodukts zum Endprodukt analog Schema I.

40 Bei Verbindungen (P)-A-B-P mit noch freier NH-Funktion an B muß diese vor Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe noch mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen werden. Die jeweils verwendeten Schutzgruppen müssen orthogonal zueinander sein.

Alternativ zum H-D-CN-Baustein kann auch H-D-CONH₂, H-D-C(NH) NH₂, H-D-C(NP) NH₂, H-D-C(NP) NHP eingesetzt werden, wobei im ersten Fall das gekuppelte Zwischenprodukt (P)-A-B-C-D-CONH₂ zu (P)-A-B-C-D-CN dehydratisiert wird.

Schema III

5



Schema III beschreibt einen sehr effizienten Weg zur Darstellung 25 der Verbindungen I durch eine konvergente Synthese. Die entsprechend geschützten Bausteine (P)-A-B-OH und H-C-D-CN werden miteinander gekuppelt und das entstandene Zwischenprodukt (P)-A-B-C-D-CN analog Schema I zum Endprodukt umgesetzt.

30 Als N-terminale Schutzgruppen werden Boc, Cbz oder Fmoc, vorzugsweise Boc eingesetzt, C-terminale Schutzgruppen sind Methyl, tert.-Butyl und Benzyl. Sind mehrere Schutzgruppen im Molekül vorhanden, so müssen diese orthogonal zueinander sein, wenn sie nicht gleichzeitig abgespalten werden sollen. Enthalten die 35 Zwischenprodukte den Baustein C, sind Cbz- und Benzylschutzgruppen ungeeignet.

Die erforderlichen Kupplungsreaktionen sowie die üblichen Reaktionen der Schutzgruppeneinführung und -abspaltung werden 40 nach Standardbedingungen der Peptidchemie durchgeführt (siehe M. Bodanszky, A. Bodanszky "The Practice of Peptide Synthesis", 2. Auflage, Springer Verlag Heidelberg, 1994).

Boc-Schutzgruppen werden mittels Dioxan/HCl oder TFA/DCM,
45 Cbz-Schutzgruppen hydrogenolytisch oder mit HF abgespalten.
Die Verseifung von Esterfunktionen erfolgt mit LiOH in einem

alkoholischen Lösungsmittel oder in Dioxan/Wasser. t-Butylester werden mit TFA gespalten.

Die Reaktionen wurden mittels DC kontrolliert, wobei üblicher-5 weise folgende Laufmittel benutzt wurden:

A. DCM/MeOH 95:5
B. DCM/MeOH 9:1
C. DCM/MeOH 8:2
10 D. DCM/MeOH/50 %ig HOAc 40:10:5
E. DCM/MeOH/50 %ig HOAc 35:15:5

Sofern säulenchromatographische Trennungen erwähnt werden, waren dies Trennungen über Kieselgel, für die die oben genannten Lauf15 mittel verwendet wurden.

Reversed phase HPLC Trennungen wurden mit Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer durchgeführt.

20 Die Ausgangsverbindungen lassen sich nach folgenden Methoden herstellen:

Als Bausteine A werden für die Alkylierung z.B. α-Bromessigsäuretert.-butylester, β-Brompropionsäure-tert.-butylester, α-Brompropionsäure-tert.-butylester, α-Brompropionsäure-tert.-butylester, α-Brombuttersäure-tert.-butylester, α-Brombuttersäure-tert.-butylester, ΤΗΡ-geschütztes Bromethanol, πηρ-geschütztes γ-Brompropanol, α-Brom-γ-butyrolacton, für die reduktive Aminierung z.B. Dihydroxyaceton, Acetondicarbonsäure-di-tert.-butylester und für die Michael-Addition z.B. Acrylsäure-tert.-butylester, Methacrylsäure-tert.-butylester, Fumarsäure-tert.-butylester eingesetzt. Die genannten tert.-Butylester werden, soweit sie nicht käuflich zu erwerben sind, analog G. Uray, w. Lindner Tetrahedron 1988, 44, 4357-62 aus den entsprechenden Carbonsäuren hergestellt.

35

B-Bausteine:

Für die allgemeine und spezielle Synthese von Aminosäuren stehen in der Literatur vielfältige Möglichkeiten zur Verfügung. Eine 40 Übersicht hierzu bietet u.a. Band El6d/Teil 1 - Houben-Weyl, S. 406 ff.

Häufig eingesetzte Edukte waren Benzophenoniminessigsäureethylester, Acetamidomalonsäurediethylester und Isonitrilessigsäure-45 ethylester. WO 98/06740 PCT/EP97/04105

Die Darstellung verschiedener Glycin-und Alaninderivate erfolgte z.B. ausgehend von Isonitrilessigsäureethylester und einem entsprechenden Keton bzw. Aldehyd (siehe H.-J. Prätorius, J. Flossdorf, M.-R. Kula Chem. Ber. 1975, 108, 3079).

Die Synthesen von 2·Norbonylglycin, Adamantylalanin, γ·Methylcyclohexylalanin, 4·Isopropylcyclohex·1·yl-alanin, 4·Methylcyclohex·1·yl-alanin und 4·Methylcyclohex·1·ylglycin wurden über die
entsprechenden 2·Formylamino-acrylsäureethylester (U. Schöllkopf
und R. Meyer, Liebigs Ann. Chem. 1977, 1174) ausgehend von Isocyanessigsäureethylester mit den jeweiligen Carbonylverbindungen
2·Norbornanon, 1·Formyladamantan, 1·Formyl·1·methyl·cyclohexan,
1·Formyl·4·isopropyl·cyclohexan, 1·Formyl·4·methyl·cyclohexan und
4·Methylcyclohexanon nach folgenden allgemeinen Vorschriften
15 durchgeführt:

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der 2-Formylaminoacrylsäureethylester

20 Zu 100 mMol Kalium-tert.-butylat in 150 ml THF tropft man bei 0 bis -10°C die Lösung von 100 mMol Isocyanessigsäureethylester in 50 ml THF. Nach 15 min fügt man bei gleicher Temperatur 100 mMol der entsprechenden Carbonylverbindung in 50 ml THF zu, läßt die Reaktionsmischung langsam auf RT ansteigen und zieht das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ab. Der Rückstand wird mit 50 ml Wasser, 100 ml Essigsäure und 100 ml DCM vermischt und das Produkt mit DCM extrahiert. Die DCM-Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Die fast rein anfallenden Produkte können im Bedarfsfall säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Gemische aus Ether/Petrolether) weiter gereinigt werden.

Allgemeine Vorschrift der Aminosäurehydrochloride ausgehend von den 2-Formylamino-acrylsäureethylestern

100 mMol der 2-Formylamino-acrylsäureethylester werden mit Pd/C (10 %)-Wasserstoff in 200 ml Eisessig bis zur vollständigen Umsetzung hydriert. Dann wird der Katalysator abfiltriert, die Essigsäure so weit wie möglich am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand in 200 ml halbkonzentrierter Salzsäure 5 h zum Rückfluß erhitzt. Man zieht die Salzsäure am Rotationsverdampfer ab, trocknet das Produkt bei 50°C im Vakuum und wäscht mehrmals mit Ether nach. Die Hydrochloride fallen als schwach gefärbte Kristalle an.

Ausgehend von 16,5 g (150 mMol) 2-Norbornanon erhielt man 26,6 g 2-Norbonylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 19,7 g (120 mMol) 1-Formyladamantan erhielt man 26,0 g Adamantylalanin-hydrochlorid. Ausgehend von 12,6 g (100 mMol) 1-Formyl-1-methyl-cyclohexan erhielt man 16,6 g γ-Methylcyclohexylalanin-hydrochlorid. Ausgehend von 16,8 g (150 mMol) 4-Methylcyclohexanon erhielt man 25,9 g (4-Methyl)-cyclohexylglycin-hydrochlorid.

Ausgehend von 15 g trans-1-Formyl-4-methylcyclohexan erhielt man 10 18 g trans-4-Methylcyclohex-1-yl-alanin-hydrochlorid.

Ausgehend von 9 g 3,3-Dimethyl-1-formylcyclohexan erhielt man 10 g 3,3-Dimethylcyclohex-1-yl-alaninhydrochlorid.

15 Der für die Synthese benötigte Aldehyd, 1-Formyl-3,3-dimethylcyclohexan, wurde in Anlehnung an Moskal und Leusen (Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 1987, 106, 137-141) dargestellt:

Eine Lösung von n-Butyl-lithium in n-Hexan (72 ml, 115 mmol) 20 wurde innerhalb von 10 min bei -60°C zu einer gerührten Lösung von Diethylisocyanomethylphosphonat (17 ml, 105 mmol) in 280 ml wasserfreiem Diethylether getropft. Die entstandene Suspension wurde 15 min bei -60°C nachgerührt und innerhalb von 10 min mit einer Lösung von 3,3-Dimethylcyclohexanon (13 g, 105 mmol) in 25 100 ml wasserfreiem Diethylether versetzt, wobei die Temperatur unter -45°C gehalten wurde. Man ließ das Reaktionsgemisch auf 0°C kommen, rührte 90 min bei dieser Temperatur und gab vorsichtig 150-200 ml 38 %ige wäßrige Salzsäure hinzu. Zur vollständigen Hydrolyse wurde 15 h lang bei Raumtemperatur heftig gerührt. Man 30 trennte die organische Phase ab, wusch sie mit je 200 ml Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung. Man trocknete über Magnesiumsulfat, filtrierte ab und engte am Rotationsverdampfer ein, um die Lösungsmittel zu entfernen. Der erhaltene Rückstand wurde ohne 35 weitere Reinigung als Ausgangsmaterial für die Synthese der Aminosäure eingesetzt.

Boc-(D)- α -methyl-cyclohexylalanin:

- 40 3,4 g (12,2 mMol) Boc-(D)- α -Methyl-Phe-OH wurden in 100 ml MeOH bei 50°C in Gegenwart von 250 mg 5-%igem Rh auf Al $_2$ O $_3$ 24 h bei 10 bar mit Wasserstoff hydriert. Man erhielt nach Filtration und Abziehen des Lösungsmittels 2,8 g Boc-(D)- α -Methyl-Cha-OH.
- 45 $^{1}\text{H-NMR}$ (DMSO-d⁶, δ in ppm): 12 (sehr breites Signal, COOH); 1,7-0,8 (25 H; 1,35 (s, Boc), 1,30 (s,Me))

Boc-(3-Ph)-Pro-OH wurde analog einer Vorschrift von J.Y.L. Chung et al. (J.Y.L. Chung et al. J.Org.Chem. 1990, <u>55</u>, 270) synthetisiert.

5 Darstellung von Boc-(D,L)-Dch-OH:

Boc-(D,L)-Dpa-OH (1mmol) wurde in 12 ml MeOH zusammen mit katalytischen Mengen von 5 % Rh/Al₂O₃ bei 5 bar hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Solvens im Vakuum erhielt man das Produkt 10 in quantitativer Ausbeute.

Darstellung von H-(D,L)-Chea-OH:

4.0 g Cycloheptylmethylmethansulfonat (19,39 mMol), hergestellt aus Cycloheptylmethanol und Methansulfonsäurechlorid, wurden zusammen mit 4.9 g Benzophenoniminglycinethylester (18,47 mMol), 8.9 g trockenem fein gepulvertem Kaliumcarbonat (64,65 mMol) und 1 g Tetrabutylammoniumbromid (3 mMol) in 50 ml trockenem Acetonitril 10 h in Inertgasatmosphäre auf Rückfluß erhitzt. Danach wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert, das Filtrat zur Trockene eingedampft, und das Rohprodukt direkt mit 20 ml 2N Salzsäure in 40 ml Ethanol 1.5 h unter Rühren bei RT hydrolisiert. Nach Verdünnen der Reaktionslösung wurde mit Essigester im sauren Bereich Benzophenon extrahiert, anschließend im alkalischen Bereich (pH = 9) H·(D,L)-Chea-OEt mit DCM extrahiert, die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Ausbeute 3.7 g 95 %

Die Darstellung von (D) - (1,4-Cyclohexadien-1-yl)ala-OH erfolgte 30 nach G. Zivilichovsky, V. Gurvich J. Chem. Soc. Perkin Trans I 19 (1995) 2509-15.

Die Darstellung von H-(D,L)- β , β -Me₂Cha-OH erfolgte nach U. Schöllkopf, R. Meyer, L. Ann. Chem. <u>1977</u>, 1174-82.

Die genannten Aminosäuren wurden nach allgemein bekannten Verfahren mit Di-tert. butyl-dicarbonat in Wasser/Dioxan in die jeweils Boc-geschützte Form überführt und anschließend aus Essigester/Hexan-Gemischen umkristallisiert oder säulenchromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Petrolether-Gemische) gereinigt.

Die Boc-geschützten Aminosäuren wurden als B-Bausteine entsprechend Schema I eingesetzt.

35

der Theorie.

WO 98/06740 PCT/EP97/04105

Die genannten Aminosäuren wurden als B-Bausteine teilweise auch in die entsprechenden Benzylester überführt, mit den entsprechend geschützten A-Bausteinen verknüpft und die Verbindungen mit noch freier N-H-Funktion anschließend mit einer Boc-Gruppe geschützt.

5 Die Benzylestergruppe wurde abhydriert und der Baustein A-B-OH durch Kristallisation, Salzfällung bzw. Säulenchromatographie

gereinigt. Dieser Weg ist exemplarisch für tBu00C-CH2-(Boc)(D)Cha

10 Synthese von (D)-Cyclohexylalaninbenzylester:

nachfolgend beschrieben.

Eine Suspension von 100 g (481 mmol) D-Cyclohexylalanin-hydrochlorid, 104 g (962 mmol) Benzylalkohol und 110 g (577 mmol) p-Toluolsulfonsäuremonohydrat in 2200 ml Toluol wurde am Wasser-

- 15 abscheider langsam zum Rückfluß erhitzt. In einem Temperaturbereich von 80-90°C beobachtete man Chlorwasserstoffentwicklung sowie das Auflösen der Suspension zu einer klaren Lösung. Als sich kein Wasser mehr abschied (ca. 4 h), destillierte man 500 ml Toluol ab, ließ die Reaktionsmischung über Nacht abkühlen,
- 20 filtrierte den entstandenen Rückstand ab und wusch zweimal mit je 1000 ml Hexan nach. Der erhaltene Rückstand (195 g) wurde sodann in 2000 ml Dichlormethan aufgeschlämmt, mit 1000 ml Wasser versetzt und unter Rühren durch sukzessive Zugabe von 50 %iger Natronlauge auf pH 9-9,5 eingestellt. Man trennte die organische
- 25 Phase ab, wusch sie zweimal mit je 500 ml Wasser, trocknete sie über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte das Filtrat ein, wodurch man 115 g (94 %) des Produktes als helles Ölerhielt.
- 30 N-(tert.-butyloxycarbonylmethyl)-(D)-cyclohexylalaninbenzylester:
 - 115 g (440 mmol) (D)-Cyclohexylalaninbenzylester wurden in 2000 ml Acetonitril gelöst, bei Raumtemperatur mit 608 g (4,40 mol) Kaliumcarbonat und 94 g (484 mmol) Bromessigsäure-
- 35 tert.-butylester versetzt und 3 Tage bei dieser Temperatur gerührt. Man filtrierte vom Carbonat ab, wusch mit Acetonitril nach, engte die Mutterlauge ein (30°C, 20 mbar), nahm den Rückstand in 1000 ml Methyl-tert.-butylether auf und extrudierte die organische Phase mit 5 %iger Zitronensäure und gesättigter
- 40 Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Man trocknete die organische Phase über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab, engte ein und setzte das erhaltene Öl (168 g) direkt in die folgende Reaktion ein.

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethyl)-(D)-cyclohexylalaninben-zylester:

Das in vorheriger Synthese erhaltene Öl (168 g, 447 mmol) wurde 5 in 1400 ml Acetonitril gelöst, mit 618 g (4,47 mol) Kalium-carbonat-Pulver und 107 g (492 mmol) Di-tert.-butyldicarbonat versetzt und 6 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Man saugte das Kaliumcarbonat ab, wusch mit ca. 1000 ml Acetonitril nach und engte das Filtrat ein. Man erhielt 230 g des gewünschten 10 Produkts.

N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethyl)-(D)-cyclohexylalanin-cyclohexylammoniumsalz:

- 15 115 g N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethyl)-(D)-cyclohexyl-alaninbenzylester wurden in 1000 ml reinem Ethanol gelöst und bei 25-30°C in Gegenwart von 9 g 10 %igem Pd auf Aktivkohle 2 h bei Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man
- 20 100 g (260 mmol) eines gelben Öls, das man in 1600 ml Aceton aufnahm und zum Rückfluß erhitzte. Man entfernte das Heizbad und gab über einen Tropftrichter zügig eine Lösung von 27 g (273 mmol) Cyclohexylamin in Aceton hinzu. Beim Abkühlen der Reaktionsmischung auf Raumtemperatur kristallisierte das ge-
- 25 wünschte Salz aus. Man filtrierte den Feststoff ab, wusch mit 200 ml Aceton nach und kristallisierte zur endgültigen Reinigung noch einmal aus Aceton um. Nach Trocknung des Rückstandes im Vakuumtrockenschrank bei 30°C erhielt man 70,2 g des gewünschten Salzes als weißes Pulver.

Das als C-Baustein eingesetzte (L)-3,4-Dehydroprolin ist käuflich zu erwerben, die (D,L)-4,5-Dehydropipecolinsäure läßt sich J. Org. Chem. 25 (1960), 489 oder C. Herdeis, W. Engel Arch. Pharm. 326 (1993), 297 herstellen und anschließend mit 35 Boc₂O in Boc(D,L)-Dep-OH überführen.

Die Synthese der D-Bausteine ist in DE 444 33 90 beschrieben.

Beispiel 1

N-Hydroxycarbonyl-methylen-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-(4-amidino)-benzylamid:

5

Boc-3,4-Dehydroprolyl-4-cyanobenzylamid:

Boc-3,4-Dehydroprolin (4,7 g, 22,0 mmol) und 4-Cyanobenzylamin (4,1 g, 24,2 mmol; DE 444 33 90) wurden in Dichlormethan (25 ml)

10 gelöst. Die Lösung wurde auf 0°C gekühlt und mit Ethyldiisopropylamin (26,4 ml, 154 mmol) versetzt. Anschließend wurde 50 %iges Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (23,3 ml, 110 mmol) langsam zugetropft. Es wurde 1 h bei 0°C und 30 min bei Raumtemperatur nachgerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit verdünnter Natriumhydrogensulfatlösung (3 x), verdünnter Natriumhydrogencarbonatlösung (3 x), gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde im Wasserstrahlvakuum eingeengt. Man erhielt 7,47 g Rohprodukt.

20

3,4-Dehydroproly1-4-cyanobenzylamid:

Das aus dem vorangegangenen Versuch erhaltene Rohprodukt von Boc-3,4-Dehydroprolyl-4-cyanobenzylamid (7,47 g) wurde in 25 Dichlormethan (88 ml) gelöst und mit etherischer Salzsäurelösung (88 ml, 5 M) versetzt. Anschließend wurde 1,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde 2 x mit Dichlormethan versetzt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum erneut abdestilliert. 30 Anschließend wurde 2 x mit Diethylether ausgerührt. Man erhielt 5,32 g Rohprodukt.

N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-BOC)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4-cyanobenzylamid:

35

tBuOOC-CH2-(Boc)-(D)-Cha-OH (7,59 g, 19,68 mmol) und H-Pyr-4cyanobenzylamid (5,19 g, 19,68 mmol) wurden in Dichlormethan
(100 ml) gelöst und mit Ethyldiisopropylamin (12,72 g, 98,4 mmol)
versetzt. Die Lösung wurde auf 0°C gekühlt und 50 %ige Propan40 phosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (20 ml) in 20 min
zugetropft nach 3 h Rühren bei 0-10°C wurde mit Dichlormethan
(100 ml) verdünnt, mit 10 %iger Natriumhydrogensulfatlösung
(3 x), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x) und Wasser
gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 13,28 g

45 mittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man ernielt 13,28 ç als leicht bräunliches Öl.

N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4-aminothiocarbonylbenzylamid:

Das aus dem vorangegangenen Versuch erhaltene Rohprodukt von 5 t-BuOOC-CH₂-(Boc)-(D)-Cha-Pyr-4-cyano-benzylamid (13,28 g) wurde in Pyridin (70 ml) und Triethylamin (12 ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und die Lösung mit Schwefelwasserstoff gesättigt (Lösung färbte sich grün). Anschließend wurde 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wurde mit Stick-

- 10 stoff verdrängt und das Löungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde in Diethylether gelöst und 3 x mit 20 %iger Natriumhydrogensulfatlösung, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x) und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum
- 15 abdestilliert. Das Rohprodukt (14,3 g) wurde mittels Flashchromatographie (Kieselgel, Gradient von Dichlormethan bis Dichlormethan: Methanol = 50:1) gereinigt. Ausbeute: 13,3 g (leicht lösungsmittelhaltig).
- 20 N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4-S-methylimiinocarbonylbenzylamid:

Das aus dem vorangegangenen Versuch erhaltene $t\text{-BuOOC-CH}_2\text{-(Boc)-}$ (D)-Cha-Pyr-aminothiocarbonyl-benzylamid (13,3 g) wurde in

- 25 Dichlormethan (135 ml) mit Methyliodid (7,97 ml, 126,90 mmol) versetzt. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 15,73 g eines leicht gelblichen Öls.
- 30 N-(tert.-Butoxycarbonyl-methylen-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-4-amidinobenzylamid:

Das aus dem vorangegangenen Versuch erhaltene Rohprodukt von t-BuOOC-CH2-(Boc)-(D)-Cha-Pyr-4-S-methyliminocarbonyl-benzylamid-

- 35 hydroiodid (15,73 g) wurde in Acetonitril (1290 ml) gelöst und mit Ammoniumacetat (3,25 g, 42,3 mmol) versetzt. Anschließend wurde 1,5 h auf 50°C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde im Wasserstrahlvakuum eingeengt und mit Dichlormethan versetzt. Die ausgefallenen Salze wurden abfiltriert und das Filtrat im Wasser-
- 40 strahlvakuum eingeengt. Man erhielt 15,17 g eines gelblichen Schaumes. Das Rohprodukt wurde über einen Ionenaustauscher (Fluka, Bestell-Nr. 00402, Acetat auf polymerem Träger) in das Acetatsalz überführt. Ausbeute: 13,3 g.

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolyl-(4-amidino)-benzylamid:

t-BuOOC-CH₂-(Boc)-(D)-Cha-Pyr-4-amidino-benzylamid-hydroacetat 5 (13,3 g) wurde in Dichlormethan (200 ml) gelöst und mit etherischer HCl (45 ml) versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde im Wasserstrahlvakuum bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde 2 x mit Dichlormethan versetzt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 11,6 g Rohprodukt.

Ein Teil des Rohprodukts (3 g) wurde über einen Ionenaustauscher (Fluka, Bestell-Nr. 00402, Acetat auf polymerem Träger) in das Acetatsalz überführt. Das so erhaltene Produkt (2,9 g) wurde

- 15 mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Gradient von Dichlormethan:Methanol = 4:1 über Dichlormethan:Methanol:50 %ige Essigsäure = 40:10:2 bis Dichlormethan:Methanol:50 %ige Essigsäure = 35:15:5). Man erhielt ein gelbliches Öl, das in Wasser gelöst wurde. Nach Filtration wurde das Filtrat gefrier-
- 20 getrocknet. Ausbeute: 2,13 g eines farblosen Feststoffes.
 FAB-MS (M+H+): 456.

Analog Beispiel 1 wurden hergestellt:

25 2. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-(4-amidino)-benzylamid:

FAB-MS (M+H+): 442

30 3. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D,L)-cycloheptylalanyl-3,4-dehydroprolyl-(4-amidino)-benzylamid:

FAB-MS (M+H+): 470

35 4. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-tert.-butylalanyl-3,4-dehydroprolyl-(4-amidino)-benzylamid:

FAB-MS (M+H+): 430

40 5. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-4,5-dehydro-pipecolyl-(4-amidino)-benzylamid:

FAB-MS (M+H+): 470

45 Die antithrombotische Wirkung der neuen Verbindungen wurde am arteriovenösen Shunt an der Ratte gezeigt. In diesem Experiment dient eine Glaskapillare in einem arteriovenösen Shunt als künst-

WO 98/06740 PCT/EP97/04105

liche thrombogene Oberfläche und löst eine Thrombose aus. Die narkotisierte (Ürethan 25 %, 2 x 8 mg/kg i.p.) Ratte wird in Rückenlage auf einer temperierten (37°C) Wärmebank fixiert. In die freipräparierte rechte A. carotis und V. jugularis werden kurze 5 Polyethylene Katheter (Portex, PE 50) implantiert, mit physiol. NaCl-Lösung gefüllt und durch Klemmen verschlossen. Die freien Enden der Katheter werden durch eine 20,0 mm lange Glaskapillare (Innendurchmesser 1,0 mm) verbunden, die als thrombogene Oberfläche wirkt. Die Applikation der Prüfsubstanz kann i.v., s.c., p.o. oder als Infusion erfolgen. Nach der gewünschten Inkubationszeit mit der Prüfsubstanz oder Lösungsmittel (Kontrolle) wird der Shunt durch Entfernen der Klemmen geöffnet. Der Blutstrom durch den Shunt führt zu einem schnellen Anstieg der Shunt-

temperatur, die an der Mitte der Glaskapillare gemessen wird.

15 Die Erhöhung von Raumtemperatur auf Körpertemperatur ist ein Indikator für die Durchgängigkeit des Shunts. Die Temperatur wird bis zum Verschluß des Shunts kontinuierlich aufgezeichnet. Bei Öffnung des Shunts und am Ende des Experiments werden zusätzlich Blutproben zur Bestimmung der anti-FIIa-Aktivität im Plasma ent-

20 nommen.

Pharmakokinetik und Gerinnungsparameter in Hunden

- Die Testsubstanzen werden unmittelbar vor der Verabreichung an

 25 wache Mischlingshunde in isotonischer Salzlösung gelöst. Die
 Applikationsvolumina betragen 0,1 ml/kg für die intravenöse
 Bolus-Injektion und 1 ml/kg für die orale Verabreichung, die per
 Schlundsonde erfolgt. Vor sowie 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120,
 180, 240, 300 und 360 min (bei Bedarf nach 420, 480 min und 24 h)

 30 nach intravenöser Applikation von 1,0 mg/kg bzw. vor sowie 10,
 20, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 480 min und 24 h nach oraler
 Gabe von 4,64 mg/kg werden Proben venösen Blutes (2 ml) in
 Citrat-Röhrchen genommen. Direkt nach der Probennahme wird die
 Ecarinzeit (ECT = ecarin clotting time) im Ganzblut bestimmt.

 35 Nach der Präparation des Plasmas durch Zentrifugation werden die
 Plasma-Thrombinzeit und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT = aktivated partial thromboplastin time) mit Hilfe
- 40 Zusätzlich werden die anti-F IIa-Aktivität (ATU/ml) und die Konzentration der Substanz durch ihre anti-F IIa-Aktivität im Plasma mittels chromogenem (S-2238) Thrombin-Assay bestimmt, wobei Eichkurven mit r-Hirudin und der Testsubstanz eingesetzt wurden.

eines Koagulometers bestimmt.

Die Plasmakonzentration der Testsubstanz ist Grundlage zur Berechnung der pharmakokinetischen Parameter: Zeit der maximalen Plasmakonzentration (T max), maximale Plasmakonzentration; Plasma-Halbwertzeit, To,5; Fläche unter der Kurve (AUC); resorbierter Teil der Testsubstanz (F).

Gerinnungs-Parameter:

Ecarinzeit (ECT = ecarin clotting time): 100 μl citratbehandeltes
10 Blut werden 2 min bei 37°C in einem Koagulometer inkubiert (CL 8,
Kugel-Typ, Bender & Hobein, München, BRD). Nach Zugabe von 100 μl
vorgewärmtem (37°C) Ecarin-Reagenz (Pentapharm) wird die Zeit bis
zur Bildung eines Fibrin-Clots bestimmt.

- 15 Aktivierte Thromboplastinzeit (APTT = activated thromboplastin time): 50 µl citratbehandeltes Plasma und 50 µl des PTT-Reagenzes (Pathrombin, Behring) werden gemischt und 2 min bei 37°C in einem Koagulometer inkubiert (CL 8, Kugel-Typ, Bender & Hobein, München, BRD). Nach der Zugabe von 50 µl vorgewärmtem (37°C)
- 20 Calciumchlorid wird die Zeit bis zur Bildung eines Fibrin-Clots bestimmt.

Thrombinzeit (TT): 100 μ l citratbehandeltes Plasma wird 2 min bei 37°C in einem Koagulometer inkubiert (CL 8, Kugel-Typ,

25 Bender & Hobein, München, BRD). Nach der Zugabe von 100 μ l vorgewärmtem (37°C) Thrombin-Reagenz (Boehringer Mannheim) wurde die Zeit bis zur Bildung eines Fibrin-Clots bestimmt.

In diesen Versuchen zeigten die neuen Verbindungen eine gute 30 Wirkung.

35

5

Patentansprüche

Verbindungen der Formel I

worin die Reste R, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 und R^6 sowie 1, m und n folgende Bedeutungen besitzen:

```
0 oder 1,
         1
                      0,1 oder 2,
         m
                      0,1 oder 2,
         n
                      H oder C1.4-Alkyl-,
25
         R
                      HOOC-, C1-6-Alkyl-OOC-, Benzyl-OOC- oder -OH,
         \mathbb{R}^1
                      H-, C_{1-4}-Alkyl- oder R^1-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-,
         R<sup>2</sup>
                      H- oder C1-4-Alkyl-, welches durch -OH oder -COOH
         R3
                      substituiert sein kann,
                      H-, C<sub>1-4</sub>-Alkyl-, HOOC-C<sub>1-4</sub>-alkylen-,
         R4
30
                      C_{1-8}-Alkyl-, Cycloalkyl-(CR^8R^9)<sub>r</sub>-, (r = 0 oder 1,
         R<sup>5</sup>
                      R^8, R^9 = H-, Cycloalkyl- oder C_{1-4}-Alkyl-), worin
                      bis zu vier CH2-Gruppen des Cycloalkylrestes unab-
                      hångig voneinander durch CR^{10}R^{11} (R^{10} = H-oder
                      C_{1-4}-Alkyl-, R^{11} = C_{1-4}-Alkyl-) und/oder die an
35
                      CR8R9 gebundene CH-Gruppe des Cycloalkylrestes
                      durch CR^{12} (R^{12} = C_{1\cdot 4}-Alkyl-) ersetzt sein können
                      und/oder eine oder zwei C-C-Einfachbindung(en) im
                      Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt sein
                      können,
40
                      H-, C<sub>1-4</sub>-Alkyl- oder
         R6
```

 R^4 und R^5 zusammen $-CH_2-CH_2-CH(R^7)-$, $(R^7=H-$, Phenyl-oder Cyclohexyl-)

30

 R^2 und R^5 zusammen - CH_2 - CH_2 - oder - CH_2 - CH_2 - CH_2 -, worin ein Wasserstoffatom durch C_{1-4} -Alkyl-, Phenyl- oder Cycloalkyl- ersetzt sein kann,

- 5 sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.
 - Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.
- 10 3. Verwendung der Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln gegen:
 - Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
 - Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombinabhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,

15

20

25

- Krankheiten, die mit Stimulation oder Inhibition von Genexpressionen in K\u00f3rperzellen einhergehen,
- Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
- Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktilitäts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen beruhen,
- thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse,
- disseminierte intravasale Koagulation,
- Reokklusion und zur Verkürzung der Reperfusionszeit bei Komedikation mit Thrombolytika,
- das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA,
 - die thrombinabhängige Proliferation von Glattmuskelzellen,
 - · die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS,
- das Tumorwachstum sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.
 - 4. Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Beschichtung von Oberflächen.
 - Verwendung der Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln gegen:
- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere Kallikrein beruht,

• Entzündungskrankheiten wie Asthma, Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inn ren Krankheiten, bei denen Kallikrein eine Rolle spielt.

Verbindungen enthaltend ein strukturelles Fragment der Formel

15

worin 1 = 0 oder 1 und R = H- oder C_{1-4} -Alkyl- bedeutet.

Verbindungen der Formel

30

worin die Reste R, R1, R2, R3, R4, R5 und R6 sowie 1, m und n die in Anspruch 1 genannten Bedeutungen besitzen.

Verbindungen der Formel 35 8.

40
$$(CH_2)_1$$
 R
 $CO - NH - CH_2 - CN$

45

worin 1 und R die Bedeutung gemäß Anspruch 1 besitzt und Y eine N.Schutzgruppe, eine N.terminal geschützte oder unge. schützte Aminosäure oder H- bedeutet.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr pplication No PCT/EP 97/04105

A. CLASSII IPC 6	FICATION OF SUBJECT MATTER CO7K5/02 CO7D207/22 CO7D211/	78 A61K38/05	
			,
B. FIELDS	o International Patent Classification (IPC) or to both national classification	tion and IPC	
	ocumentation searched (classification system followed by classification CO7K CO7D A61K	n symbols)	
Decumentat	ion searched other than minimum documentation to the extent that su	ich decuments are included in the fields saamhe	od.
Documental	IOTI SEBILITEO CITTET INIII I INIII I IOTI COCCUITE I II IOTI COCCUITE I I I I I I I I I I I I I I I I I I	DI GOCUMENTO ATO VICEO DE INTERNACIONA	
Electronic d	ata base consulted during the international search (name of data bas	se and, where practical, search terms used)	
C. DOCUM	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the rele	vant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94 29336 A (ASTRA AB) 22 Decement cited in the application see the whole document	nber 1994	1-8
Ρ,Χ	WO 96 25426 A (BASF) 22 August 19 see the whole document	996	1-8
Furt	her documents are listed in the continuation of box C.	Patent family members are listed in ann	nex.
"A" docume consic "E" earlier (liling c "L" docume which citatio "O" docume other ("P" docume later ti	ant which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publicationdate of another in or other special reason (as specified) ent referring to an oral disclosure, use, exhibition or means ent published prior to the international filing date but han the priority date claimed actual completion of theinternational search	"T" later document published after the internation or priority date and not in conflict with the a cited to understand the principle or theory invention "X" document of particular relevance; the claims cannot be considered novel or cannot be cinvolve an inventive step when the document." "Y" document of particular relevance; the claims cannot be considered to involve an inventive document is combined with one or more of ments, such combination being obvious to in the art. "A" document member of the same patent familiary document member of the international search in	application but underlying the sed invention considered to sent a taken alone and invention we stop when the ther such docu-a person skilled
1	O November 1997	20/11/1997	
Name and r	mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Masturzo, P	·

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

..c ...tion on patent family members

Interr \pplication No
PCT/EP 97/04105

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9429336 A	22-12-94	AU 6986994 A	03-01-95
		BR 9406746 A	19-03-96
		CA 2162900 A	22-12-94
		CN 1127509 A	24-07-96
		CZ 9503020 A	17-04-96
		EP 0701568 A	20-03-96
		FI 955828 A	04-12-95
		HR 940311 A	31-10-96
		HU 74739 A	28-02-97
		JP 8511018 T	19-11-96
		LT 1947 A,B	27-12-94
		MX 9404114 A	31-01-95
		NO 954873 A	01-02-96
		NZ 267534 A	22-08-97
		PL 311819 A	18 - 03-96
		SK 145495 A	01-10-96
		US 5602253 A	11-02-97
WO 9625426 A	22-08-96	AU 4875196 A	04-09-96
		FI 973360 A	15-08-97

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter: r : Aktenzeichen
PCT/EP 97/04105

A MI ACCI	EIZIEBLING DES ANNEL DUNGSGEGENSTANDES		
IPK 6	FIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES CO7K5/02 CO7D207/22 CO7D211/	78 A61K38/05	
Nach der Int	ternationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klas:	sifikation und der IPK	
B. RECHE	RCHIERTE GEBIETE		
	ner Mindestprufstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbol	e)	
IPK 6	CO7K CO7D A61K		
0	rte aber nicht zum Mindestprüfstoffgehörende Veröffentlichungen, sow	veit diese unter die recherchierten Gehiete (al	len
Hecherchier	ne aber nicht zum Mindestprüßtongenorende Veronentlichungen, son	Adit digge nutet die techetanierien deniere jer	(C) 1
Wahrend de	er internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (N	ame der Datenbank und evtl. verwendete Su	chbegriffe)
	ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		Date Assessed No.
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweil erforderlich unter Angabe	der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
_	WO 94 29336 A (ASTRA AB) 22.Dezem	hor 100/	1-8
Α	in der Anmeldung erwähnt	Dei 1994	
	siehe das ganze Dokument		
P,X	WO 96 25426 A (BASF) 22.August 19	96	1-8
[,,	siehe das ganze Dokument	30	1 0
	,		
1	•		
			
	itere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu nehmen	X Siehe Anhang Patentlamilie	
1	e Kategorian von angegebenen Veröffentlichungen ;	"T" Spätere Veröffentlichung, die nach demin oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht w	ternationalen Anmeldedatum vorden ist und mit der
aber	entlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, nicht als besonders bedautsam anzusehen ist	Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur z Erfindung zugrundeliegenden Prinzips o	um Verständnis des der
	Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen ekledatum veröffentlicht worden ist	Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutu	
a chair	entlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft er- nen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer	kann allein aufgrund dieser Veröffentlich	ung nicht als neu oder auf
ander soil or	ren im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden der die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie	"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutu kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit	ing; die beanspruchte Erlindung I beruhend betrechtet
O Veröffe	eführt) entlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,	werden, wenn die Veröffentlichung mit ei Veröffentlichungen dieser Kategorie in V	ner oder mehreren anderen
"P" Verölle	Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht entlichung, die vor dem internationalen Anneldedatum, aber nach	diese Verbindung für einen Fachmann na *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben P.	sheliegend ist
	beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist Abachlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Rech	
1	O.November 1997	20/11/1997	
Name und	Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter	
	Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk		
	Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Masturzo, P	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 97/04105

Im Recherchenbericht geführtes Patentdokum nt	Datum der Veröffsatlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9429336 A	22-12-94	AU 6986994 A	03-01-95
, , , , , , , , , , , , , , , , , ,	,	BR 9406746 A	19-03-96
		CA 2162900 A	22-12-94
		CN 1127509 A	24-07-96
		CZ 9503020 A	17-04-96
		EP 0701568 A	20-03-96
		FI 955828 A	04-12-95
		HR 940311 A	31-10-96
		HU 74739 A	28-02-97
		JP 8511018 T	19-11-96
		LT 1947 A,B	27-12-94
		MX 9404114 A	31-01-95
		NO 954873 A	01-02-96
		NZ 267534 A	22-08-97
		PL 311819 A	18-03-96
		SK 145495 A	01-10-96
		US 5602253 A	11-02-97
WO 9625426 A	22-08-96	AU 4875196 A	04-09-96
, , , , , , , , , , , , , , , , , ,		FI 973360 A	15-08-97